Maisons-Alfort, le 4 octobre 2012

LE DIRECTEUR GENERAL

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la demande d'homologation de la matière fertilisante MYCOR, à base de *Glomus* et de corne de bovin broyée, de la société IF TECH

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a notamment pour mission l'évaluation des dossiers de matières fertilisantes et supports de culture.
Les avis formulés par l'Agence comprennent :

- *l'évaluation des risques sanitaires que l'utilisation de ces produits peut présenter pour l'homme, l'animal ou l'environnement ;*
- *l'évaluation de leur efficacité sur les végétaux ainsi que celle de leurs autres bénéfices éventuels ;*
- *une synthèse de ces évaluations assortie de recommandations portant notamment sur leurs conditions d'emploi.*

PRESENTATION DE LA DEMANDE

L'Agence a accusé réception d'une demande d'homologation au titre des matières fertilisantes du produit MYCOR de la société If Tech, pour laquelle, conformément à l'article R.255-1-1 du Code rural et de la pêche maritime, l'avis de l'Anses est requis.

Le pétitionnaire déclare que le produit MYCOR est commercialisé en Italie en tant qu'« inoculum de champignon mycorhizien » entrant dans la catégorie « produit à action spécifique, produit à action sur le sol », conformément à la norme italienne en vigueur sur les fertilisants (décret législatif n° 75/2010 du 29 avril 2010). La société If Tech est inscrite au « Registre des fabricants de fertilisants » attaché à la Direction générale du développement rural, des infrastructures et des services du Ministère Italien des politiques agricoles alimentaires et forestières. Par ailleurs, le produit MYCOR dispose d'une inscription au « Registre des fertilisants ». Le pétitionnaire présente sa demande dans le cadre de l'alinéa 3 de l'article R.255-1-1 du Code rural et de la pêche maritime. Néanmoins, aucun document relatif à l'évaluation du produit préalablement à sa mise sur le marché dans l'Etat membre d'origine n'a été communiqué à l'Anses.

Le présent avis porte sur le produit MYCOR à base de *Glomus intraradices* et de corne de bovin broyée, destiné à la symbiose endomycorhizienne.

Cet avis est uniquement fondé sur l'évaluation par l'Agence du dossier déposé à l'Anses, par le pétitionnaire, pour cette préparation microbienne, conformément aux exigences du Code rural et de la pêche maritime, de l'arrêté du 21 décembre 1998 et du guide pour l'homologation des Matières Fertilisantes et Supports de Culture (document cerfa 50644#01) et sous réserve de l'utilisation du produit dans le respect des bonnes pratiques agricoles (BPA).

SYNTHESE DE L'EVALUATION

Les données prises en compte sont celles qui ont été jugées valides par l'Anses. L'avis présente une synthèse des éléments scientifiques essentiels qui conduisent aux recommandations émises par l'Agence et n'a pas pour objet de retracer de façon exhaustive les travaux d'évaluation menés par l'Agence.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé "Matières Fertilisantes et Supports de Culture", réuni le 11 septembre 2012, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet l'avis suivant.

CONSIDERANT L'IDENTITE DU PRODUIT

Le produit MYCOR est obtenu à partir de corne de bovin broyée et de propagules de *Glomus intraradices*, souche CMCCROC7. Il se présente sous forme de poudre contenant, au minimum, 50 propagules par gramme.
L'effet revendiqué par le pétitionnaire concerne la mise en place d'une symbiose mycorhizienne dans les racines des plantes à mycorhizes à arbuscules.
Ce produit est proposé pour une utilisation en mélange dans les supports de culture ou en apport au sol localisé ou en plein, aux stades plantation, semis, bouturage, acclimatation, repiquage ou rempotage. Le produit peut également s'appliquer en poudrage sur les racines des plantes.

Usages et conditions d'emploi du produit demandés :

Cultures		Dose par apport	Nombre de propagules par ha	Nombre d'apports par an	Epoques d'apport
Plantes à mycorhizes à arbuscules	Hors-sol	2 à 3 $kg.m^{-3}$	5 à $7,5.10^7$	1	Multiplication Rempotage
	Pleine terre	21 $kg.ha^{-1}$	1.10^6		Semis Plantation Aération

La dose maximale d'apport prise en compte pour l'évaluation de l'innocuité du produit est de 21 kg par hectare et par an.

CONSIDERANT LE MODE DE FABRICATION DU PRODUIT ET LA QUALITE DE LA PRODUCTION

Caractérisation du produit et procédé de fabrication

Les spécifications du produit telles que décrites sur le formulaire cerfa 11385 (arrêté du 21/12/98, annexe I) et la fiche d'information permettent de caractériser ce produit. Cependant, aucune donnée analytique ne permet de vérifier et de confirmer l'identité du champignon au niveau de l'espèce et de la souche. En outre, aucune indication sur l'origine de la souche CMCCROC7 n'a été communiquée.
Par ailleurs, la caractérisation granulométrique du produit est insuffisante pour pouvoir quantifier le taux de particules respirables.

Le produit MYCOR est élaboré par le mélange des matières premières. Chaque lot de commercialisation correspond à 7 kg.
Le système de management de la qualité de la fabrication est décrit de manière partielle. La gestion des non-conformités n'est pas décrite.

Les attestations croisées de fourniture et d'approvisionnement ne sont pas présentées de manière exhaustive pour ce qui concerne les sources de matières premières pour lesquelles ces documents sont requis.

Le procédé de fabrication ne conduit pas à identifier de dangers éventuels autres que ceux inhérents aux matières premières utilisées.

Constance de composition du produit

L'argumentaire proposé par le pétitionnaire pour justifier l'absence d'étude d'homogénéité du produit peut être considéré comme acceptable.
La méthode de dénombrement MPN[1] mise en œuvre pour l'étude de l'invariance et de la stabilité du produit, bien que la seule reconnue scientifiquement pour estimer le nombre de propagules infectieux mycorhiziens, est peu informative dans les conditions expérimentales de réalisation des études. En effet, elle ne permet pas de déterminer avec précision la teneur en propagules de *Glomus* dans les échantillons analysés. Aussi, les lots non-conformes sur ce critère devraient être déclassés. Par ailleurs, compte-tenu de la grande incertitude des mesures, la stabilité du produit est difficile à apprécier. Néanmoins, le pétitionnaire déclare que le produit MYCOR, conservé à température modérée (10 - 20°C) dans son emballage d'origine, dans un local sec et à l'abri de la lumière, reste stable sur une période de un an.

Méthodes d'échantillonnage et d'analyse

Les méthodes d'échantillonnage ne sont pas décrites mais ne présentent pas d'enjeu important dans le cas des cultures microbiennes.

L'analyse de caractérisation du produit MYCOR a été effectuée par un laboratoire externe accrédité COFRAC[2] sur le programme 108.

La précision de la technique méthode de dénombrement MPN nécessiterait d'être améliorée en réalisant des dilutions successives de l'inoculum plus fines et/ou en augmentant le nombre de répétitions.

Il est rappelé que, aux écarts admissibles près, la conformité de chaque unité de commercialisation du produit aux teneurs garanties sur l'étiquette est requise, et que ces écarts admissibles ne peuvent pas être exploités de manière systématique.

CONSIDERANT LES INFORMATIONS RELATIVES A L'INNOCUITE DU PRODUIT

Matières premières et procédé de fabrication

L'espèce *Glomus intraradices* n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme ou l'animal. Cette espèce est habituellement présente dans les sols agricoles et présente une spécificité d'hôte pour les végétaux. Le pétitionnaire signale que *Glomus intraradices* est un symbiote strict, incapable de se développer sans établir une symbiose avec les racines d'une plante et que la souche n'a pas d'activité saprophytique ce qui rend toute pathogénicité ou parasitisme pour les animaux ou les microorganismes impossible. Le pétitionnaire indique que la dissémination du champignon est faible et que, sans la présence de la plante hôte, la persistance des différentes souches dans les sols est limitée. Par ailleurs, l'OCDE[3] précise que les champignons endomycorhizogènes n'entrainent aucun risque pathogène évident vis-à-vis des animaux et des êtres humains (Rapport relatif à la sécurité en biotechnologie concernant les micro-organismes utilisés comme biofertilisants, 1995). Enfin, aucune étude disponible dans la littérature ne révèle la production de toxine par la souche *Glomus intraradices*. Cependant, l'origine de la souche utilisée ainsi que les données analytiques permettant de vérifier et de confirmer l'identité du microorganisme au niveau de l'espèce et de la souche, manquent pour pouvoir conclure quant à l'innocuité du produit.

[1] MPN = Most Probable Number
[2] COFRAC = COmité FRançais d'ACcréditation
[3] OCDE = Organisation de Coopération et de Développement Économiques

Les éléments communiqués relatifs à la corne de bovin broyée ne permettent pas de s'assurer que les conditions de traitement appliqué à cette matière première soient conformes à celles énoncées pour les matières de catégorie 3 imposées par la réglementation européenne sur la valorisation des produits à base de sous-produits animaux (Règlement (CE) N° 1069/2009). Les analyses microbiologiques de la corne broyée communiquées révèlent une contamination en *Clostridium perfringens* et en entérocoques fécaux. Aussi, l'efficacité hygiénisante du séchage thermique de la corne de bovin broyée est remise en cause.

Etude toxicologique du produit fini

Les teneurs en éléments traces métalliques (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, Zn) permettent de respecter les critères d'innocuité pour l'homologation des matières fertilisantes.
Les teneurs en composés traces organiques n'ont pas été mesurées. Néanmoins, compte tenu de la nature du produit et de son procédé de fabrication, ces analyses ne sont pas jugées nécessaires.
En revanche, les analyses révèlent une contamination microbienne du produit au regard des critères microbiologiques en vigueur pour l'homologation. En effet, le produit MYCOR ne respecte pas la valeur de référence pour les critères Entérocoques, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus*. Par ailleurs, les *Listeria monocytogenes* n'ont pas été recherchées. La contamination microbienne globale du produit est à relier à celle du support organique constituant le produit MYCOR.
Aucune donnée toxicologique expérimentale n'a été communiquée sur le produit MYCOR.
Sur la base des éléments disponibles, le produit MYCOR ne nécessite aucune classification toxicologique. Néanmoins, compte tenu de la nature physique et microbienne du produit, le port de gants appropriés, de vêtements de protection et d'un masque anti-aérosol de classe FFP3 s'impose. Par ailleurs, la phrase « contient *Glomus intraradices*. Les microorganismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation », devrait apparaître sur l'étiquetage.

Résidus et sécurité du consommateur

Les éléments requis dans les dossiers de demande d'homologation des matières fertilisantes et supports de culture permettent de conduire une évaluation *a priori* pour le consommateur, uniquement pour les contaminants pour lesquels des valeurs de référence ont été déterminées. Ces valeurs de référence pourraient elles-mêmes évoluer à la lumière de données méthodologiques, techniques, scientifiques et réglementaires récentes.
La présence d'Entérocoques, *Escherichia coli*, de *Clostridium perfringens,* et de *Staphylococcus aureus,* identifiée dans le produit fini, ne permet pas d'exclure un risque pour le consommateur.

Devenir dans l'environnement et écotoxicité du produit fini

Aucune donnée écotoxicologique expérimentale relative à la toxicité vis-à-vis des organismes terrestres et aquatiques de la souche ou du produit fini n'a été communiquée. De plus, aucune information sur la persistance de cette souche dans l'eau n'a été soumise.

Le pétitionnaire indique que la souche de *Glomus intraradices* (souche CMCCROC7) est naturellement présente dans les sols. La biotrophie obligatoire de ces micro-organismes ne leur permet pas de se développer ailleurs que sur des racines de plantes hôtes. Par conséquent, la dissémination dans l'environnement de ces champignons endomycorhizogènes est faible.

Enfin, aucune donnée n'étant disponible, il n'est pas possible d'établir le classement du produit MYCOR vis-à-vis de l'environnement. Cependant, pour l'espèce *Glomus intraradices* présente dans certains sols et connue pour être symbiote de plantes hôtes, il n'est pas attendu de risque pour l'environnement.

CONSIDERANT LES INFORMATIONS RELATIVES A L'EFFICACITE DU PRODUIT

Caractéristiques biologiques du produit

Effet revendiqué

L'effet principal revendiqué est l'établissement d'une symbiose mycorhizienne dans les racines des plantes à mycorhizes à arbuscules. Cette revendication est notamment basée sur la nature des éléments de composition du produit (inoculum de *Glomus*). Par ailleurs, le pétitionnaire présente à l'appui de cette revendication 3 essais réalisés dans les conditions d'emploi préconisées sur poireau, fraise et pépinière.

Mode d'action et éléments relatifs à l'efficacité intrinsèque

Le pétitionnaire a réalisé une synthèse bibliographique pertinente relative à la symbiose entre les mycorhizes et les racines des plantes. Bien que la souche *Glomus intraradices* CMCCROC7 constituant le produit MYCOR ne soit pas spécifiquement citée, les publications scientifiques communiquées dans le dossier biologique démontrent l'efficacité potentielle et/ou pratique de la symbiose mycorhizienne dans les racines des plantes.
L'existence de la symbiose est gouvernée par des échanges nutritionnels entre l'hôte, apportant des sucres, et le champignon, fournissant des minéraux peu mobiles tels que le phosphore. Ces échanges ont lieu essentiellement dans les arbuscules et au niveau de la membrane plasmique de certaines cellules corticales de l'hôte. Le champignon stocke le phosphore dans ses vacuoles sous forme de granules de polyphosphates. La présence du *Glomus* dans les racines stimule également l'absorption des oligoéléments et de l'eau.

Essais d'efficacité en conditions d'emploi préconisées

L'ensemble des essais a été réalisé avec les produits de la gamme professionnelle, présentant notamment une richesse en propagules de *Glomus intraradices* supérieure à celle du produit MYCOR.

Poireau
L'essai sur poireau a été mené en France en 2010 avec le produit référencé MYCOR PRO.
La modalité MYCOR PRO est sans effet significatif par rapport au témoin sur le poids moyen total de la plante (+ 9%), le poids moyen des racines (+ 3%) et le rendement (+ 10%).
Les analyses des faisceaux racinaires montrent une présence assez faible de mycorhizes pour les poireaux des modalités MYCOR PRO et témoin dans une seule des trois parcelles élémentaires.

Fraisier
L'essai sur Tray-plants de fraisier (*Fragaria vesca* var. Gariguette) a été réalisé en France en 2011 avec le produit référencé MYCOR PRO ST-5000 (composants essentiels : cornes broyées, poudre d'algues, vermiculite, *Glomus intraradices*, *Glomus fasciculatum*).
Cet essai ne peut pas être considéré comme valide, le produit MYCOR PRO ST-5000 incorporé dans le substrat ayant une composition différente de celle du produit MYCOR.

Pépinière
L'essai, mené en France en 2011, a pour objectif de mesurer l'intérêt de l'apport de différents microorganismes associés à différentes fertilisations pour la culture de deux plantes, *Ribes sanguineum* Pulborought Scarlet (groseillier à fleur) et *Lavendula x intermedia* (Dutch) (lavande), en pépinière hors-sol, dans le cadre de la mise au point de substrats avec fertilisation organique.
Le produit testé est le produit référencé MYCOR PRO.
Sur *Ribes*, les résultats sont difficilement interprétables suite à une importante mortalité des plants au cours de l'étude.
Sur *Lavandula*, l'effet particulièrement fort de MYCOR PRO sur la croissance pourrait être dû à la libération de l'azote contenu dans la corne de bovin broyée. L'apport de MYCOR PRO a une incidence positive sur la mycorhization des racines des plants de lavande.

Conclusions sur le mode d'emploi du produit

Le mode d'emploi indiqué est suffisant pour permettre une bonne utilisation du produit MYCOR dans le substrat des cultures hors-sol, mais est insuffisant pour les cultures de pleine terre.

La teneur en champignon endomycorhizien à arbuscule (inoculum de *Glomus*) constitue un paramètre à déclarer sur l'étiquette. Une mention complémentaire précisera que le produit contient de la corne broyée, qui apporte de l'azote et du phosphore.

Revendication et dénomination de classe et de type retenues

La revendication présentée par le pétitionnaire relative à la mise en place d'une symbiose mycorhizienne dans les racines des plantes à mycorhizes à arbuscules peut être considérée comme soutenue pour les cultures hors-sol.
La dénomination de classe et de type proposée est la suivante : « Champignon endomycorhizien à arbuscule (inoculum de *Glomus*). Contient de l'azote et du phosphore ».

CONCLUSIONS

En se fondant sur les données soumises par le pétitionnaire et évaluées dans le cadre de cette demande, ainsi que sur l'ensemble des éléments dont elle a eu connaissance, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail estime que :

A. La caractérisation du produit MYCOR n'est pas considérée comme satisfaisante. En effet, aucun élément du dossier ne permet de vérifier et de confirmer l'identité du champignon au niveau de l'espèce et de la souche. En outre, aucune indication sur l'origine de la souche CMCCROC7 n'a été communiquée.
Par ailleurs, la constance de composition du produit n'a pas été démontrée de manière totalement satisfaisante.

B. L'innocuité du produit MYCOR pour les usages demandés est considérée comme non conforme aux exigences réglementaires. En effet, le produit MYCOR présente une contamination microbienne généralisée.
Par ailleurs, aucune information relative à la conformité de la corne de bovin broyée au Règlement (UE) sur les sous-produits animaux n'a été communiquée. Conformément au Règlement (UE) n° 142/2011 (règlement portant application du Règlement (CE) n° 1069/2009), la farine de cornes doit avoir subi *a minima* la méthode de transformation n° 7[4].
Enfin, aucune analyse de caractérisation de l'espèce du microorganisme présente dans le produit n'ayant été communiquée et en l'absence de données expérimentales toxicologiques et écotoxicologiques, il n'est pas possible de conclure à l'absence d'effet néfaste du produit, sur l'homme, l'animal et l'environnement.

C. La démonstration de l'efficacité potentielle du produit MYCOR est établie, notamment par les données de la littérature scientifique. Cependant, les essais mis en œuvre ne sont pas totalement satisfaisants et ont été réalisés sur les produits de la gamme professionnelle dont les compositions sont différentes du produit MYCOR (ils sont notamment plus riches en *Glomus*).

[4] à savoir toute méthode de transformation autorisée par l'autorité compétente qui exige que l'exploitant a démontré à l'autorité compétente, notamment, que les échantillons prélevés quotidiennement pendant 30 jours de production sont indemnes de *Clostridium perfringens* (échantillons prélevés directement après le traitement) d'une part, et sont indemnes de Salmonelles et présentent une concentration en Entérobactéries qui n'excède pas 10 ufc par gramme de produit (2 échantillons sur 5 pouvant présenter une concentration comprise entre 10 et 300 ufc par gramme de produit) d'autre part.

Par conséquent, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet un avis **défavorable** à la mise sur le marché du produit MYCOR.

Marc MORTUREUX

Mots-clés : MYCOR - *Glomus intraradices* - corne de bovin broyée - champignon endomycorhizien - mycorhizes à arbuscules